

漬物中のビタミンCに関する研究—II—

ヒドラジン比色法によるビタミンC定量におけるビタミンCグループ*の分析値と定量に及ぼす甘味料の影響

若本ゆかり・藤澤浩明

Studies on Vitamin C in Tsukemono (Salted Vegetables) — II .

The Analytical Values of Vitamin C Group by the 2,4 - Dinitrophenylhydrazine Method and the Influence of Added Sweetenings on the Determination of Ascorbic Acid

Yukari Wakamoto and Hiroaki Fujisawa

The analytical values of vitamin C group by the 2,4 -dinitrophenylhydrazine method were compared, and the influence of added sweetenings on the determination of ascorbic acid was examined. On the levels expressed as total vitamin C content, ascorbic acid was the highest, and followed by sodium ascorbate, erythorbic acid, and sodium erythorbate. The highest concentrations in mg/100ml which dose not effect on the determination of ascorbic acid by the hydrazine method were respectively 150 for fructose, 250 for liquid sugar and stevioside, 300 for sucrose, 1,000 for licorice, 1,500 for glucose, higher than 30,000 for sorbitol and higher than 500 for sodium saccharin.

1. 緒言

前報¹⁾において著者らは、種々の市販漬物中のビタミンC含量をヒドラジン比色法^{2,3)}によって定量したが、漬物だいこん及び漬きゅうりの一部にかなり高い総ビタミンC量があることを認めた。一般に本法による調理加工食品中のビタミンC量は高い値を示すことが知られているので^{4,5,6)}、著者らは漬物中の各種の食品添加物がビタミンCの定量値に及ぼす影響について検討する必要があることを指摘した。

ヒドラジン比色法は比較的簡単に微量のビタミンCを定量することができるので、食品中のビタミンCの定量においても、種々の実験条件や改良法について報告されており^{4,5,6,7)}、とくに高橋ら⁴⁾は糖類等の影響がない濃度まで試料を希釈することを提唱している。希釈効果を期待することは、本法によって漬物中のビタミンC含量を定量する場合に実用上有効と考

*アスコルビン酸(AsAと略称)、アスコルビン酸ナトリウム(AsNa)、エリソルビン酸(ErA)及びエリソルビン酸ナトリウム(ErNa)

えられるので、漬物中の種々の食品添加物について、それぞれ適切な希釈濃度を明らかにし、実用条件を確立する必要がある。

因に市販漬物中の主な食品添加物は、次の通りである。

酸化防止剤：アスコルビン酸 (AsA)、アスコルビン酸ナトリウム (AsNa)、エリソルビン酸 (ErA) 及びエリソルビン酸ナトリウム (ErNa)、保存料：ソルビン酸及びソルビン酸カリウム、甘味料：ショ糖、ブドウ糖、果糖、液糖、ソルビット、ステビア、甘草エキス及びサッカリンナトリウム、糊料：CMC 及びキトサン、色素：黄色 3 号、黄色 4 号、黄色 5 号、赤色 104 号及びうこん、調味料：アミノ酸及びしょうゆ、酸味料：食酢、クエン酸及びリンゴ酸。

本報では、これらの添加物のうち、酸化防止剤及び甘味料について、ヒドラジン比色法によってビタミン C を定量した場合、ビタミン C グループのそれぞれの定量値がどのように表われるか、また甘味料が AsA の定量にどのような影響を及ぼすかについて検討した。

漬物中の酸化防止剤として用いられている上記のビタミン C グループの 4 種は、いずれも酸化防止作用は同程度と考えられるので、近年 AsA や AsNa の代わりに安価な ErA や ErNa が次第に使用されるようになった^{8,9)}。しかし、生理作用からみると、ErA や ErNa は AsA や AsNa に比べてその作用がきわめて低いので¹⁰⁾、これら 2 種の酸化防止剤が漬物中に添加されている場合、ビタミン C としての生理活性は期待されないのであるが、ヒドラジン比色法によればビタミン C として定量される。したがって、本法により漬物中のビタミン C を定量する場合は、これら 4 種の酸化防止剤の定量値の関係を検討することが必要となる。そこで、AsNa、ErA 及び ErNa が AsA に対比してどのような定量値を示すかを明らかにした。

次に AsA 試料液に甘味料としてショ糖、ブドウ糖、果糖、液糖、ソルビット、ステビア、甘草エキス及びサッカリンナトリウムがそれぞれ混合された場合、それら甘味料が AsA の定量値にどのように影響するかを検討した。とくに影響を及ぼさない限界濃度を求め、それぞれの希釈効果を明らかにし、ヒドラジン比色法による漬物中のビタミン C 定量法の実用条件を明確にすることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 供試材料

AsA、AsNa、ErA 及び ErNa のビタミン C グループは、いずれも特級試薬 (片山化学) を用いた。

甘味料では、ショ糖、ブドウ糖及び果糖については特級品を、液糖 (ブドウ糖果糖液糖)、ソルビット、ステビア、甘草エキス及びサッカリンナトリウムについては食品添加物用を用いた。

2.2 ビタミンCの定量法

前報¹⁾と同一のヒドラジン比色法^{2,3)}を用いた。

なお、ビタミンCグループ及び甘味料は、いずれも5%メタリン酸溶液に溶かして必要濃度まで希釈して用いた。ただし、サッカリンナトリウムは5%メタリン酸溶液に不溶であったので、原液(1000mg/100ml)のみ再留水で溶解し、希釈にはメタリン酸溶液を用いた。ビタミンCの定量に及ぼす甘味料の影響を調べる場合には、一定濃度のAsA溶液に種々の濃度の甘味料溶液を等量ずつ加えて供試した。

ビタミンCグループの各試料液及びAsAと甘味料の各混合試料の一定量について、それぞれ総ビタミンC(TVC)量を定量し、100ml中のmg数で表わし、AsAのTVC量に対比する値で示した。

3. 実験結果

3.1 AsNa, ErA及びErNaのAsAに対する定量値

比較的高い濃度(1~5 mg/100ml)におけるAsA量とAsNa, ErA及びErNaのAsA定量値を表1に示した。

表1. ヒドラジン比色法による比較的高い濃度(1~5 mg/100ml)におけるAsA量とAsNa, ErA及びErNaのAsA定量値*

ビタミンC	AsA 定量値 (mg/100ml)				
AsA	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00
AsNa	0.91	1.94	2.61	3.54	4.43
ErA	0.76	1.55	2.16	2.87	3.51
ErNa	0.61	1.24	1.62	2.24	2.64

* AsAのTVC量(mg/100ml)を基準とした。

表1から、同一濃度では、TVC量で表わした定量値はAsAが最も高く、次いでAsNa, ErA, ErNaの順であった。

表1から、AsNa定量値(y_1)、ErA定量値(y_2)及びErNa定量値(y_3)とAsA量(x)との関係をそれぞれ求め、図1に示した。

得られた回帰式($y=a_0+a_1x$)は、次の通りである。

$$y_1 = 5.248 \times 10^{-6} + 0.8953x$$

$$y_2 = 2.249 \times 10^{-6} + 0.7233x$$

$$y_3 = 2.079 \times 10^{-6} + 0.5567x$$

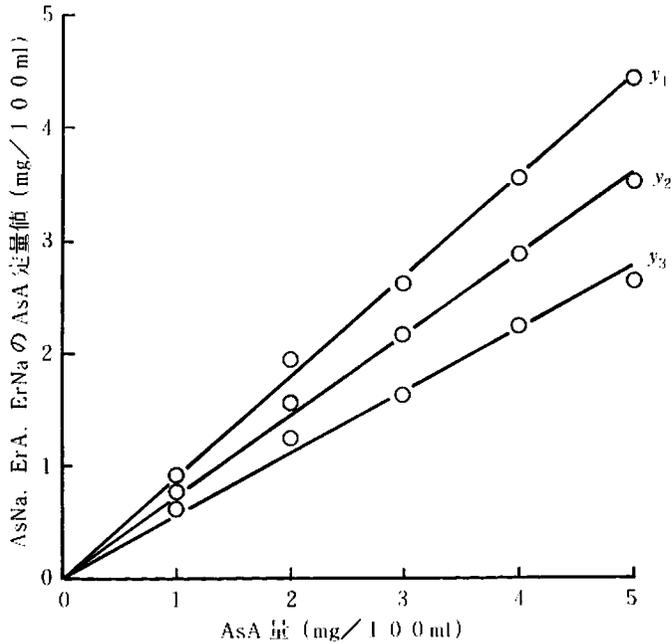


図1. ヒドラジン比色法によるAsNa, ErA及びErNaのAsA定量値 (y_1, y_2, y_3) とAsA量 (x) との関係 (濃度1~5mg/100ml)

$$y_1 = 5.248 \times 10^{-6} + 0.8953x$$

$$y_2 = 2.249 \times 10^{-6} + 0.7233x$$

$$y_3 = 2.079 \times 10^{-5} + 0.5567x$$

また、添加物の影響がない程度まで試料液を希釈した場合、試料中のビタミンCグループもかなり低濃度となるので、1mg/100ml以下の場合について、上述の場合と同様に検討し、表2に示す結果を得た。

表2. ヒドラジン比色法による比較的低い濃度 (1mg/100ml以下) におけるAsA量とAsNa, ErA及びErNaのAsA定量値*

ビタミンC	AsA 定量値 (mg/100ml)				
AsA	0.200	0.400	0.600	0.800	1.000
AsNa	0.205	0.386	0.559	0.745	0.923
ErA	0.168	0.309	0.455	0.626	0.768
ErNa	0.119	0.228	0.355	0.468	0.590

* AsAのTVC量 (mg/100ml) を基準とした。

表2から、AsNa定量値(y_1)、ErA定量値(y_2)及びErNa定量値(y_3)とAsA量(x)との関係をそれぞれ求め、図2に示した。

得られた回帰式($y = a_0 + a_1x$)は、次の通りである。

$$y_1 = 1.594 \times 10^{-6} + 0.9415x$$

$$y_2 = 3.655 \times 10^{-7} + 0.7756x$$

$$y_3 = 8.644 \times 10^{-5} + 0.5727x$$

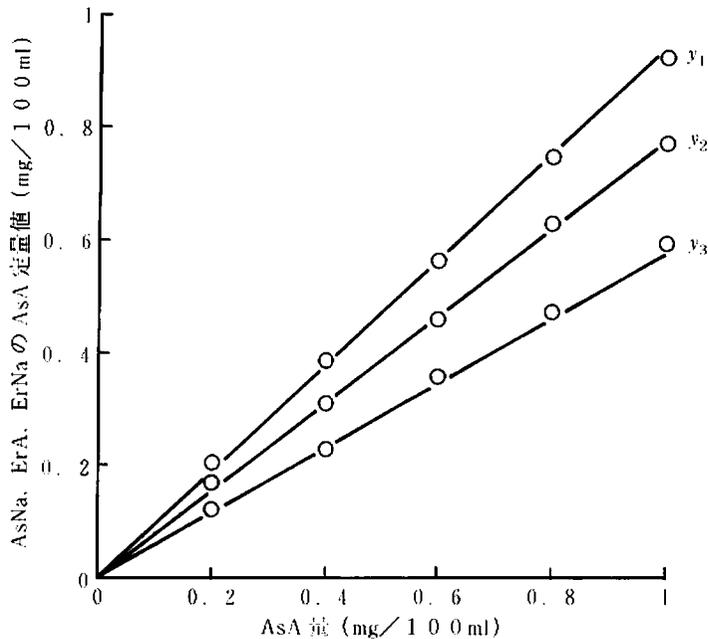


図2. ヒドラジン比色法によるAsNa, ErA及びErNaのAsA定量値 (y_1, y_2, y_3) とAsA量 (x) との関係 (濃度1mg/100ml以下)

$$y_1 = 1.594 \times 10^{-6} + 0.9415x$$

$$y_2 = 3.655 \times 10^{-7} + 0.7756x$$

$$y_3 = 8.644 \times 10^{-5} + 0.5727x$$

図2を図1と比較すると明らかなように、ビタミンCグループが低濃度の場合であっても、高濃度の場合とほとんど同じ傾向が認められた。

3.2 ヒドラジン比色法によるAsAの定量に及ぼすシヨ糖の影響

AsAの濃度を5, 1及び0.5mg/100mlとした供試液に、それぞれ異なる濃度のシヨ糖を加え、AsAの定量値にどのように影響を及ぼすかを試験した。その結果を表3に示した。

表3から、AsA供試液の濃度がどの場合も、シヨ糖濃度がおおむね300mg/100mlまではAsA量に変化がみられなかった。

AsA供試液の濃度による差が認められなかったので、以後の実験ではAsAの濃度条件を1mg/100mlのみとした。

表3. ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすショ糖の影響

ショ糖の濃度 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)
0	4.99	1.02	0.50
50	5.00	1.00	0.50
100	4.99	1.00	0.49
150	5.00	1.02	0.50
200	4.99	1.00	0.51
250	4.93	1.02	0.49
300	5.00	1.00	0.51
350	4.76	0.66	0.35
400	4.36	0.71	0.30
450	4.51	0.85	0.29
500	4.61	0.89	—

— : 正確な定量値が得られなかった。

3.3 ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすブドウ糖の影響

このことについて得られた結果を、表4に示した。

表4から、ブドウ糖についてはおおむね濃度1,500mg/100mlまで、AsAの定量値に影響を及ぼさないことがわかった。

表4. ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすブドウ糖の影響

ブドウ糖の濃度 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)
0	1.00
200	1.00
400	0.99
600	1.00
800	1.00
1000	1.00
1200	1.00
1400	1.00
1500	1.00
1600	0.90
1800	0.75
2000	0.81
3000	0.67
4000	0.58
5000	0.51

3-4 ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼす果糖の影響

このことについて得られた結果を、表5に示した。

表5から、果糖については、おおむね濃度150mg/100mlまで、AsAの定量値に影響を及ぼさないことがわかった。

表5. ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼす果糖の影響

果糖の濃度 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)
0	1.00
50	1.00
100	1.00
150	1.00
160	0.77
180	0.81
200	0.60
250	0.73
300	0.54
400	0.41
500	0.40

3-5 ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすソルビットの影響

このことについて得られた結果を、表6に示した。

表6から、ソルビットについては、おおむね濃度30g/100mlまでAsA量に変化がみられなかった。なお、これ以上の濃度については、本実験条件では実験することが困難であった。

表6. ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすソルビットの影響

ソルビットの濃度 (g/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)
0	1.00
5	1.00
10	1.00
15	0.99
20	1.00
25	1.01
30	1.00

3-6 ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼす液糖の影響

このことについて得られた結果を、表7に示した。

表7から、液糖については、おおむね濃度250mg/100mlまで、AsAの定量値に影響を及ぼさないことがわかった。

表7. ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼす液糖の影響

液糖の濃度 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)
0	1.00
50	1.00
100	1.00
150	1.00
200	1.00
250	1.00
300	0.87
350	0.85
400	0.85
450	0.83
500	0.79

3-7 ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすステビアの影響

このことについて得られた結果を、表8に示した。

表8から、ステビアについては、おおむね濃度250mg/100mlまで、AsAの定量値に影響を及ぼさないことがわかった。

表8. ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすステビアの影響

ステビアの濃度 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)
0	1.00
100	1.01
200	1.01
250	1.00
300	0.87
350	0.83
400	0.70
450	0.72
500	0.76

3-8 ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼす甘草エキスの影響

このことについて得られた結果を、表9に示した。

表9から、甘草エキスについては、おおむね濃度1.000mg/100mlまで、AsAの定量値に影響を及ぼさないことがわかった。

表9. ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼす甘草エキスの影響

甘草エキスの濃度 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)
0	1.00
100	1.00
400	1.00
500	1.00
1000	1.00
1500	0.95
2000	0.86
2500	0.84
3000	0.81
3500	—
4000	0.56
4500	0.26
5000	—

—：正確な定量値が得られなかった。

3-9 ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすサッカリンナトリウムの影響

このことについて得られた結果を、表10に示した。

表10から、サッカリンナトリウムについては、濃度500mg/100mlまでは、明らかに AsA の定量値に全く影響がみられなかった。更に高い濃度で検討しようとしたが、本実験条件ではサッカリンナトリウムが析出して実験することが不可能であった。

表10. ヒドラジン比色法による AsA の定量に及ぼすサッカリンナトリウムの影響

サッカリンナトリウムの濃度 (mg/100ml)	AsA 量 (mg/100ml)
0	1.00
100	1.01
200	1.01
300	1.00
400	1.01
500	1.01

4. 考察

3・1の結果から AsNa, ErA 及びErNa は, それぞれ AsA に対して量的に一定の関係を示すことがわかった。したがって当然のことであるが, 漬物試料中にこれらのビタミンCグループが添加されていると, ヒドラジン比色法によっては AsA として定量される。

これらのビタミンCグループの4種は酸化防止剤としての効力は, いずれも同じ程度とされているが, 生理作用からみると AsNa は AsA と大差がないが, ErA 及びErNa は AsA の1/20以下であるとされている¹⁰⁾。したがって, 漬物中に ErA 及び ErNa が添加されている場合には, ビタミンCとしての生理効果はそれほど期待できない。なお, 近年漬物中に酸化防止剤として ErA や ErNa が AsA や AsNa の代りに次第に用いられるようになってきているので⁹⁾。この場合には生理効果について十分認識する必要があると思われる。

3・2~3・9の結果から, 甘味料が添加されても AsA の定量値に影響を及ぼさない限界濃度をそれぞれ100ml中のmg数で表わすと, おおむね次の通りである。

ショ糖が300, ブドウ糖が1,500, 果糖が150, ソルビットが30,000以上, 液糖が250, ステビアが250, 甘草エキスが1,000, サッカリンナトリウムが500以上である。果糖で最も影響が大きく, 次いで液糖及びステビア, ショ糖の順であり, ブドウ糖及び甘草エキスは影響が少なく, さらに, ソルビット及びサッカリンナトリウムについては明らかな影響が認められなかった。これらの結果から, 甘味料の漬物への使用条件から考えると, ソルビット, 甘草エキス及びサッカリンナトリウムについては, AsA の定量に及ぼす影響を考慮する必要はないものと思われる。

高橋ら⁴⁾は糖類について, ヒドラジン比色法により定量値に及ぼす影響を調べ, それぞれ果糖0.4%, ショ糖0.5%, ブドウ糖0.6%以下の濃度では定量値に影響がないことを述べている。これに比べて, 今回の結果ではそれぞれの限界濃度は, 果糖0.15%, ショ糖0.3%, ブドウ糖1.5%であり, 高橋ら⁴⁾の結果よりも果糖及びショ糖で濃度が低く, ブドウ糖では著しく濃度が高い。この両者の差異は, 実験条件の相違に原因があるものと思われる。

いずれにしても, 高橋ら⁴⁾が述べているように, 添加された甘味料の濃度を AsA の定量に影響しない濃度にまで希釈することによって, ヒドラジン比色法によるビタミンCの定量が期待できる。

ところで, 果糖の限界濃度150mg/100mlや液糖及びショ糖の限界濃度250及び300mg/100mlを基準とし, 糖分の高い漬物の糖度を15%と仮定して適当な希釈濃度を試算すると, それぞれ100倍, 60倍, 50倍となる。希釈率の高い場合には, 当然, 試料中のビタミンC量も微量となるので, 本定量法による定量の感度を上げる必要がある。今後このことについて種々検討し, ヒドラジン比色法による漬物中のビタミンCの定量条件を確立したい。

5. 要約

本報では漬物中のビタミンC含量をヒドラジン比色法によって定量する場合、酸化防止剤として添加されたビタミンCグループ (AsA, AsNa, ErA 及び ErNa) のそれぞれの定量値がどのように表われるか、また添加された甘味料が AsA の定量にどのような影響を及ぼすかについて種々検討した。これらの結果を要約すると次の通りである。

1. ビタミンCグループの同一濃度では、TVC量で表した定量値 (mg/100ml) は AsA が最も高く、次いで AsNa, ErA, ErNa の順であった。

ビタミンCグループの濃度が比較的高い場合 (1~5 mg/100ml), AsNa 定量値(y_1), ErA 定量値(y_2)及び ErNa 定量値(y_3)と AsA 量(x)との関係を求めると、次の回帰式が得られた。

$$y_1 = 5.248 \times 10^{-6} + 0.8953x$$

$$y_2 = 2.249 \times 10^{-6} + 0.7233x$$

$$y_3 = 2.079 \times 10^{-5} + 0.5567x$$

また、ビタミンCグループの濃度が比較的低い場合 (1 mg/100ml以下) にも、前者と同様の結果が得られ、回帰式は次の通りであった。

$$y_1 = 1.594 \times 10^{-6} + 0.9415x$$

$$y_2 = 3.655 \times 10^{-7} + 0.7756x$$

$$y_3 = 8.644 \times 10^{-5} + 0.5727x$$

2. AsA と糖類を混合した場合、AsA の定量値に影響を及ぼさない限界濃度 (mg/100ml) は、それぞれ果糖が150、液糖及びステビアが250、ショ糖が300、甘草エキスが1,000、ブドウ糖が1,500、ソルビットが30,000以上、サッカリンナトリウムが500以上であった。試料に影響しない濃度まで希釈することによって、ヒドラジン比色法によるビタミンC量の測定が期待できる。

終わりに、本研究の遂行に当り御指導を賜った本学中野薫二教授並びに品川沙夫講師に深甚なる謝意を表します。またとりまとめに当り、有益な御教示を頂いた本学上田正教授及び一柳和正教授に厚く感謝致します。さらに多種類の漬物用食品添加物を提供して頂いた株式会社オニマル製造部長福原耕一氏、種々懇切な御教示を頂いた岡山大学河田哲典助教授並びに日本ロシユ株式会社化学品本部開発課長末木和夫氏に衷心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) 若本ゆかり・藤澤浩明：下関女子短大紀要，12，47～59 (1994)
- 2) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編：食品分析法，光琳，1992，pp. 466～476
- 3) J. H. Roe, M. B. Mills, M. J. Oesterling, and C. M. Damron: *J. Biol. Chem.*, 174, 201～208 (1948)

- 4) 高橋徹三・河野一江：ビタミン, 7, 1017~1023 (1954)
- 5) 松下竹次郎・酒井達郎・音羽鈴子：栄養と食糧, 13, 163~169(1960)
- 6) 浦部貴美子・川村正純：滋賀県立短大学術雑誌, 24, 54~58 (1983)
- 7) 藤田秋治・広瀬福子・内山由子：ビタミン, 40, 17~26 (1969)
- 8) 末木和夫・矢部恵理子：月刊フードケミカル, No.11, 116~119 (1990)
- 9) 食品化学新聞社：月刊フードケミカル, No.10, 89 (1993)
- 10) 稲垣長典：New Food Industry, 19, 38~40 (1977)